

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①⑪ N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 786 693

②① N° d'enregistrement national :

98 15340

⑤① Int Cl⁷ : A 61 K 7/48, A 61 K 38/05

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 04.12.98.

③⑦ Priorité :

⑦① Demandeur(s) : *PARFUMS CHRISTIAN DIOR Société anonyme — FR.*

④③ Date de mise à la disposition du public de la demande : 09.06.00 Bulletin 00/23.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦② Inventeur(s) : SCHNEBERT SYLVIANE et ANDRE PATRICE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE.

⑤④ AGENT COSMETIQUE POUR OBTENIR UNE ACTION AMINCISSANTE.

⑤⑦ La présente invention concerne un peptide synthétique.

Ce peptide synthétique correspondant à la formule générale: R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH2 ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, comme agent: cosmétique ou pour la fabrication d'une composition cosmétique, pour obtenir une action amincissante et/ ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges grasses sous-cutanées.

Ce peptide peut être utilisé comme agent cosmétique ou pour la fabrication d'une composition cosmétique pour obtenir une action amincissante et/ ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges grasses sous-cutanées.

FR 2 786 693 - A1



L'invention concerne essentiellement l'utilisation d'au moins un peptide synthétique correspondant à la formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel
5 R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyl
10 comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH2 ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, comme agent cosmétique ou pour la fabrication d'une composition cosmétique pour obtenir une action amincissante et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées. L'invention
15 concerne aussi un procédé de traitement cosmétique avec ledit peptide, ainsi que l'utilisation dudit peptide pour la fabrication d'une composition pharmaceutique à usage topique destinée au traitement de la cellulite et/ou au traitement des surcharges graisseuses sous-cutanées.

Les peptides utilisés dans le cadre de la présente invention sont connus et
20 décrits avec leur procédé de fabrication dans le document WO 98/07744 SEDERMA. Ce document décrit aussi leur utilisation dans le domaine cosmétique et dermatopharmaceutique pour tous les soins de la peau ou du cuir chevelu, particulièrement pour l'atténuation des sensations d'irritation, de douleur bénigne, les effets de chaleur, de froid, du frottement ou des agressions mécaniques de la
25 peau, voir page 6, lignes 3 à 12.

Par ailleurs, les professionnels recherchent depuis de nombreuses années des moyens pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées et/ou la cellulite, en particulier pour obtenir une action amincissante. Un certain nombre de substances introduites dans des produits cosmétiques ou
30 pharmaceutiques ont ainsi vu le jour mais il reste encore des progrès à faire pour pouvoir proposer des produits cosmétiques ou pharmaceutiques capables de régler ce problème de manière satisfaisante.

Le problème technique à résoudre a été pour les inventeurs de trouver une nouvelle substance, cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable, capable
35 de réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées et/ou la

cellulite et/ou présentant des propriétés amincissantes, et par ce biais, capable de résoudre le problème posé.

Les inventeurs ont réussi à sélectionner des substances particulières présentant de remarquables propriétés amincissantes (et capables de réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées et/ou capables de réduire ou prévenir la cellulite). De manière totalement inattendue, les présents inventeurs ont découvert que les peptides synthétiques correspondant à la formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyl comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH2 ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, présentaient des propriétés amincissantes remarquables.

Comme énoncé en relation avec l'art antérieur, l'utilisation des peptides selon l'invention est déjà connue dans les domaines cosmétique ou dermatologique ainsi que le décrit le document WO 98/07744 qui fait état des propriétés calmantes au niveau de la peau desdits peptides. Pour de plus amples informations concernant ces peptides, et notamment leur obtention, l'homme de l'art pourra se reporter à ce document qui est incorporé dans sa totalité par référence.

Ainsi, selon un premier aspect, la présente invention concerne l'utilisation d'au moins un peptide synthétique correspondant à la formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyl comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH2 ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, comme agent cosmétique ou pour la fabrication d'une composition cosmétique, pour obtenir une action amincissante et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées.

Selon un mode de réalisation avantageux, le peptide précité est tel que les groupes R1 constitué du groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne aliphatique aliphatique comprenant de 1 à 18 atomes de carbone et R2 constitué du groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne aliphatique linéaire saturée ou non aliphatique comprenant de 1 à 18 atomes de carbone, représentent chacun une chaîne aliphatique linéaire saturée ou insaturée comprenant de 1 à 18 atomes de carbone.

Selon un mode de réalisation actuellement préféré, le peptide précité est le N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyle.

10 Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le peptide précité est préalablement solubilisé dans un ou plusieurs solvants cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptables comme l'eau, l'éthanol, le propanol ou l'isopropanol, le propylène glycol, l'éthoxydiglycol, les éthers méthyliques ou éthyliques des diglycols, les polyols cycliques, les diglycols éthoxylés ou
15 propoxylés ou tout mélange de ces solvants.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le peptide précité est préalablement solubilisé dans un vecteur cosmétique ou pharmaceutique comme les liposomes ou adsorbé sur des polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autre supports minéraux, et plus généralement
20 solubilisé dans, ou fixé sur, tout vecteur cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le peptide précité est présent dans une composition cosmétique à une concentration comprise entre 0,001% et 10% environ, et préférentiellement à une concentration
25 comprise entre 0,01% et 1% environ en poids par rapport au poids total de la composition finale.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le peptide précité est associé à un excipient cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable, contenant de préférence un agent améliorant la biodisponibilité dudit
30 peptide tel qu'un agent de pénétration, tel que l'éthanol.

Selon un deuxième aspect, la présente invention concerne une composition cosmétique destinée à obtenir une action amincissante, et/ou à réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité cosmétiquement efficace pour obtenir ladite
35 action amincissante et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, d'au moins un peptide synthétique correspondant à la

formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH2 ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, dans un excipient cosmétiquement acceptable.

10 Toutes variantes de réalisation de la composition cosmétique résultent clairement pour un homme de l'art de la description précédente relative à l'utilisation.

 Selon un troisième aspect, la présente invention concerne encore un procédé de traitement cosmétique pour obtenir une action amincissante, et/ou pour
15 réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, caractérisé en ce qu'on applique topiquement sur les zones concernées de la peau, une quantité efficace pour obtenir ladite action amincissante, et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, d'au moins un peptide synthétique correspondant à la formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2
20 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne
25 alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH2 ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, dans un excipient cosmétiquement acceptable.

 Des modes de réalisation particuliers de ce procédé de traitement cosmétique résultent clairement également de la description précédente, ainsi que
30 de la description suivante.

 Généralement, les zones concernées de la peau seront les zones du corps, particulièrement les cuisses, le ventre, la poitrine, le cou et/ou le visage.

 Selon un quatrième aspect, la présente invention concerne encore l'utilisation d'un peptide précité pour la fabrication d'une composition
35 pharmaceutique à usage topique destinée au traitement de la cellulite et/ou au traitement des surcharges graisseuses sous-cutanées.

L'invention concerne encore, selon un cinquième aspect, une méthode de traitement thérapeutique de la cellulite et/ou des surcharges graisseuses sous-cutanées, caractérisée en ce qu'on applique topiquement sur les zones concernées de la peau une quantité efficace pour traiter thérapeutiquement la cellulite ou les surcharges graisseuses d'au moins un peptide synthétique précité, éventuellement dans un excipient pharmaceutiquement acceptable.

Des modes de réalisation particuliers de cette utilisation d'un peptide précité pour la fabrication d'une composition pharmaceutique ou pour le traitement thérapeutique sont réalisés selon les mêmes modes que ceux décrits pour les compositions cosmétiques précitées.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront clairement à la lumière de la description explicative qui va suivre faite en référence tout d'abord à un essai de mise en évidence *in vitro* de l'activité lipolytique des peptides selon l'invention (exemple 1) et à un essai de mise en évidence *in vivo* de l'activité amincissante des peptides selon l'invention (exemple 2), et ensuite avec des exemples de compositions cosmétiques ou pharmaceutique.

Exemple 1 de l'invention

Mise évidence de l'activité lipolytique des peptides selon l'invention,

in vitro

Le tissu adipeux est formé de grosses cellules adipeuses qui contiennent une gouttelette lipidique uniloculée repoussant le noyau à la périphérie, lui donnant un aspect très caractéristique.

On sait que le rôle essentiel du tissu adipeux est d'assurer le maintien de l'équilibre énergétique. Il gère les fluctuations énergétiques induites par l'apport alimentaire ou les états de jeûne en stockant l'énergie sous forme de triglycérides, par le phénomène de lipogénèse, ou en la libérant par la mise à disposition des acides gras, par le phénomène de la lipolyse.

L'intense métabolisme dont il est le siège est sous contrôle essentiellement hormonal. La possibilité d'isoler l'adipocyte intact par digestion du tissu à l'aide de la collagénase a été décrite par Rodbell en 1964, dans « Metabolism of isolated fat cells » publié dans J. Biol. Chem. ; Vol. 239 ; pages 375-380, ce qui a constitué une étape décisive dans l'étude de la physiologie et du métabolisme de l'adipocyte isolé.

Des progrès encore plus déterminants ont été accomplis grâce au développement de lignées cellulaires susceptibles de se différencier en adipocytes

in vitro. Ces lignées offrent un support de choix pour l'étude du métabolisme adipocytaire à long terme dans un environnement hormonal et nutritionnel contrôlé.

5 Les modèles cellulaires permettent ainsi maintenant d'appréhender les mécanismes moléculaires contrôlant la prolifération et la différenciation cellulaire. Ces lignées constituent ainsi des supports méthodologiques privilégiés pour réaliser des études d'ingrédients ou principes actifs à visée amincissante par le biais de la régulation du phénomène lipolyse/lipogénèse.

10 Ainsi, dans le cas de la présente invention, un peptide représentatif de la famille des peptides précités, à savoir le N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl, disponible dans le commerce dans une préparation nommée Sensicalmine® qui contient environ 1% de peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl, commercialisée par la société Sederma, France, a été testé sur une lignée de préadipocytes murins 3T3 F442A, dans les conditions de tests reconnues par
15 l'homme de l'art comme étant sûrs, fiables et reproductibles, comme décrit ci-après :

I - MATERIEL ET METHODES

1°. Culture de cellules 3T3 F442A

20 Le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl, représentatif de la famille de peptides selon l'invention sera testé comme agent lipolytique potentiel sur une lignée de préadipocytes murins 3T3 F442A. Ces préadipocytes 3T3 F442A sont obtenus comme décrit par GREEN H. et KEHINDE O. dans : Spontaneous Heritable Changes Leading to Increased Adipose Conversion in 3T3 Cells, publié
25 dans Cell, Vol. 7, 1976, pages 105-113. Ces préadipocytes 3T3 F442A peuvent se multiplier et se différencier en présentant le phénotype morphologique et biochimique caractéristique de la fonction différenciée de l'adipocyte mature. Lorsqu'ils sont en phase exponentielle de croissance, ils sont d'apparence fibroblastique, présentent une forme allongée et sont très adhérents au support. A
30 confluence lorsque ces conditions sont permissives, une transition morphologique très précoce leur confère une forme arrondie.

Les cellules connaissent alors un processus d'amplification clonale. A ces changements morphologiques s'ajoutent des accroissements de l'activité d'enzymes lipogénétiques ainsi que des augmentations de réponses de la part des cellules à
35 des hormones/facteurs affectant la lipogénèse et la lipolyse.

Une enzyme clé dans le processus de synthèse des triglycérides est la glycérol-3-phosphate déshydrogénase (G3 PDH) : son activité spécifique augmente considérablement et peut donc être utilisée comme une mesure précise et sensible de la conversion adipocytaire comme décrit par Pairault et Green H. dans « A study of the adipose conversion of suspended 3T3 cells by using glycerophosphate deshydrogenase as differenciation marker » publié dans Proc. Natl. Acad. Sci. USA ; (1979), Vol. 76, n°10, pages 5138-5142 et par Koekemoer T.C, Litthauer D, Oelofsen W., dans « Isolation and characterization of adipose Tissue Glycerol-3-Phosphate Deshydrogenase », publié dans Int. J. Biochem. Cell. Biol. ; Vol. 27, n°6, (1995), pages 625-632.

Les préadipocytes murins 3T3 F442A sont reconnus par l'homme de l'art comme constituant un excellent modèle d'étude de la lipolyse de part les transformations morphologiques et métaboliques acquises par les cellules pendant leur programme de développement.

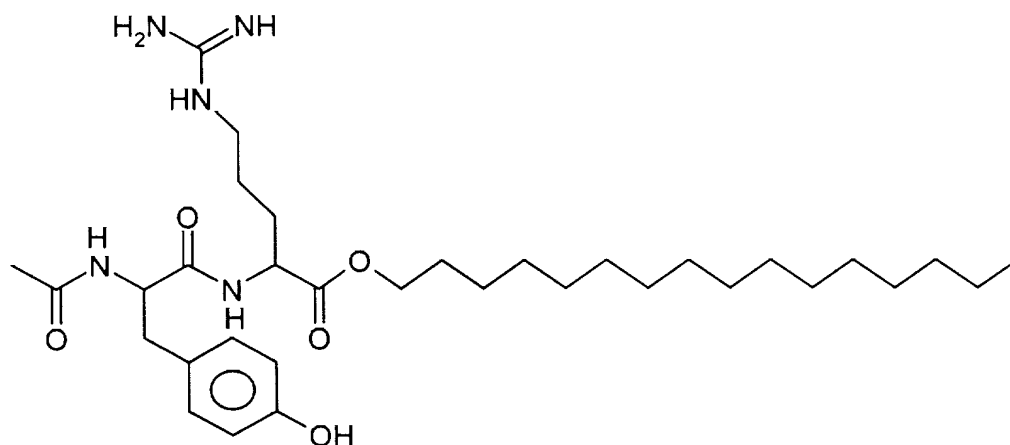
Dans l'essai réalisé, les préadipocytes 3T3 F442A sontensemencés dans des boîtes de Pétri 35 mm de chez Corning, et mis à l'étuve à 37°C sous une atmosphère air-CO₂ dans un rapport 95/5. Les cellules sont cultivées dans un milieu essentiel minimum de Eagle modifié selon Dulbeco par ajout de 4,50 g/l de glucose, milieu dénommé DMEM - GIBCO BRL, complémenté avec 5 % de sérum de veau, SV, de chez BIOMEDA, et 5 % de sérum de veau foetal de chez GIBCO pendant la phase de croissance.

A la confluence cellulaire, le milieu de base reste le même, DMEM, mais est supplémenté avec 10 % de sérum de veau foetal ou SVF, et de l'insuline à 5 µg/ml de chez SIGMA.

L'addition d'insuline dans le milieu de culture favorise le processus de maturation terminale des cellules. Les cellules sont ensuite traitées par les différentes molécules, mises en solution dans le milieu décrit précédemment.

2°. Produits à tester

Le produit à tester selon l'invention est le peptide de synthèse présentant la formule suivante :



Sur l'essai de mise en évidence des propriétés lipolytiques, ce peptide est
dénommé N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl et disponible dans le commerce
5 dans une préparation nommée Sensicalmine[®], commercialisée par la société
Sederma, France (Réf. SCH 97016). Sensicalmine[®], contient environ 1% de
peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl, lequel est dissous dans de
l'éthoxydiglycol.

Le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl est testé à la concentration
10 de 1 pmole/l = $0,6 \cdot 10^{-9}$ g/l.

La solution mère est préparée dans du DMSO.

3°. Plan d'expérience

Au jour J=0 : On réalise l'ensemencement des cellules 3T3 F442A a une
15 densité cellulaire de 2×10^4 cellules/boîte de Pétri 35 mm en utilisant un milieu de
culture DMEM, 5 % SVF / 5 % SV.

Au jour J=2 : On réalise un changement de milieu.

Au jour J=4 : On réalise encore un changement de milieu.

Au jour J=7 : La culture a atteint le stade de confluence. On utilise
20 comme milieu de culture DMEM, 10 % SVF supplémenté de 1 % en insuline de
chez SM 500 µg/ml.

Au jour J=9 : Changement de milieu.

Au jour J=11 : Changement de milieu.

Au jour J=14 : Traitement soit avec le produit témoin, soit avec le produit
25 de l'invention N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl.

Au jour J=16 : Traitement.

Au jour J=18 : Traitement.

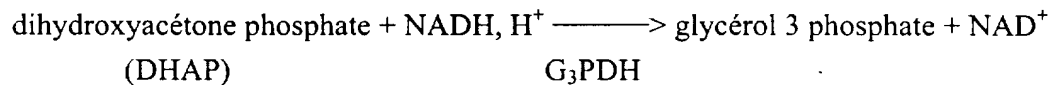
Au jour J=21 : Broyage des cellules pour dosage de la G₃PDH.

4°. Détermination de l'activité glycéro-3-phosphate déshydrogénase ou G₃PDH)

5 Le dosage de l'activité G₃PDH est effectué selon la méthode de KOZAK et JENSEN telle que décrite dans « genetic and developmental control of multiple forms of L-glycerol 3-phosphate deshydrogenase », publié dans J. Biol. Chem, Vol. 249, n° 24, (1974) pages 7775-7781.

La G₃PDH catalyse la réaction suivante :

10



On mesure en spectrophotométrie sur appareil KONTRON à la longueur d'onde de 340 nm, la consommation de NADH en fonction du temps. On peut calculer ainsi une $\Delta \text{Abs}/\text{minute}$ qui correspond à la vitesse initiale de la réaction enzymatique. Les résultats sont exprimés en activité spécifique ou AS, soit en nmoles de NADH transformé/min/mg de protéine. Le taux de protéines total est évalué par méthode du BCA avec le réactif Protein Assay Reagent commercialisé par la société PIERCE LTD Royaume-Uni.

20

$$\text{AS} = 81,25 \times \Delta \text{ABS}/\text{min} \times \frac{1}{\text{mg protéine}}$$

5°. Préparation des extraits cellulaires

25 Le tapis cellulaire est lavé 2 fois avec du tampon PBS (en anglais "phosphate-buffered saline") et les cellules sont récupérées par grattage dans du tampon 25 mM, TRIS-HCL, pH 7,5 contenant 1 mM d'EDTA à 4°C. Les cellules sont homogénéisées par broyage au dounce, une vingtaine de fois. L'homogénat est centrifugé à 10 000 g pendant 10 min à 4°C.

30 La G₃PDH étant une enzyme hydrosoluble, on mesure son activité dans le surnageant du broyat cellulaire en présence des substrats appropriés, c'est-à-dire NADH 0,13 mM, DHAP 1 mM, de chez SIGMA, tampon TEA-EDTA 50 mM, 1 mM.

35 A la suite des dosages, une activité spécifique est calculée. Les cellules traitées sont comparées aux cellules témoins. La G₃PDH étant le reflet de l'état de

différenciation des cellules, plus son activité spécifique est importante et plus les cellules sont différenciées et inversement. Si les molécules testées ont une bonne action lipolytique, l'activité de la G₃PDH doit être faible.

La moyenne sur trois mesures rapportées à un écart type donne l'activité spécifique moyenne et ensuite on calcule le pourcentage d'inhibition de l'activité de la G₃PDH produit soit par la solution témoin, soit par le produit selon l'invention, c'est-à-dire le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl.

Un pourcentage d'inhibition de l'enzyme atteint 40-50 % et des données brutes significativement différentes par rapport aux témoins sont des données requises pour conclure à de bons agents lipolytiques.

6°. RESULTATS

	Activité spécifique G ₃ PDH nmoles/min/mg protéines	% inhibition par rapport au témoin
Témoin	56,8 ± 8,2	
N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl	34,61 ± 3,23	39 (S)

S = significatif $p < 0,05$

Les résultats montrent que le peptide selon l'invention ou le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl, conduit à une bonne inhibition de la G₃PDH en regard des critères d'efficacité imposés à savoir au moins 40-50 % d'inhibition, en obtenant 39 % d'inhibition avec le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl.

Ainsi, le produit représentatif de l'invention, à savoir le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl constitue un agent lipolytique approprié en raison de l'obtention de 39 % d'inhibition de l'activité de la G₃PDH.

Ainsi, le produit selon l'invention peut être proposé pour la fabrication de compositions cosmétiques ou pharmaceutiques destinées à obtenir une action amincissante et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir la cellulite.

Exemple 2 de l'invention**Mise en évidence in vivo de l'activité amincissante des peptides selon l'invention**

5 Afin de prouver l'activité amincissante des peptides selon l'invention, les inventeurs ont réalisé des test in vivo sur des volontaires humains de sexe féminin.

Ces tests ont évalués l'amincissement obtenu par application topique de compositions contenant un peptide selon l'invention sur la peau des cuisses des volontaires humains.

10 L'activité amincissante a été évaluée en mesurant l'épaisseur du tissu adipeux de la face externe des cuisses. Les mesures de l'épaisseur du tissu adipeux ont été réalisées en utilisant la technique de l'échographie ultrasonore (échographe type AU4 Idea de la société ESAOTE BIOMEDICA, Gênes - Italie, équipé d'une sonde linéaire opérant à une fréquence de 14 MHz).

15 Les volontaires testées, au nombre de 10, répondaient toutes, entre autres, aux critères suivants :

- âgées de 18 à 50 ans,
- présentant une infiltration cellulitique nette mais modérée au niveau des cuisses,
- 20 • non-enceintes ou n'allaitant plus depuis au moins 3 mois,
- pratiquant une contraception sûre et avec le même produit, dans le cas de la pilule, depuis au moins 3 mois,
- ne pratiquant pas de traitement amincissant (cosmétique, médicamenteux, hormonal, dermatologique) depuis moins de 3 mois,
- 25 • ne participant pas, depuis moins de 3 mois, à une autre étude d'évaluation cosmétique, dermatologique ou médicale pouvant interférer avec l'étude,
- n'ayant pas subi d'intervention chirurgicale lourde depuis moins d'un an,
- 30 • ne présentant pas d'hypersensibilité cutanée aux produits cosmétiques,
- ayant une peau saine dans la région de la mesure (absence de psoriasis, érythème, oedème, cicatrice, plaie, lésions),
- ne pratiquant pas de régime alimentaire depuis moins de 3 mois et ne désirant pas en pratiquer pendant la durée de l'étude,
- 35 • présentant un poids stable depuis au moins 3 mois (variation inférieure à 2%,

- ayant un rapport poids/taille ($BMI = \text{poids}/\text{taille}^2$) compris entre 18 et 26 ou présentant une cellulite nette au niveau des cuisses pour un BMI compris entre 18 et 20.

5 Les produits ont été appliqués régulièrement et de façon très homogène sur l'ensemble d'une cuisse par un massage circulaire en insistant particulièrement sur la zone présentant une infiltration cellulitique. Le massage est arrêté après la totale pénétration du produit. L'application a été réalisée deux fois par jour.

La localisation du site de mesure et son repérage aux différents temps de la cinétique devant être le plus rigoureusement reproductible. Le repérage a donc
10 été réalisé par un marquage cutané au niveau même du site de la mesure échographique. Le positionnement de ce repère a été pratiqué « de visu », au sommet du renflement cellulitique. Ce repère a été effectué sur les deux cuisses à la même hauteur par rapport au sol. La précision de ce repérage est inférieure à
15 5mm.

L'imagerie ultrasonore utilisée pour les mesures, consiste en la réalisation d'une cartographie des impédances des tissus concernés aux ondes ultrasonores. Après émission d'un faisceau d'ondes par une sonde, la réception des échos et la valeur de leur intensité liée à leur absorption par les différents tissus permettent de
20 construire une image dans le plan du faisceau.

La résolution spatiale des images obtenues est directement liée à la fréquence d'émission des ondes ultrasonores. Pour l'étude, et dans le but d'obtenir la meilleure précision possible sur la mesure de l'épaisseur du tissu adipeux, une sonde à haute fréquence a été retenue (14MHz). La profondeur scrutée pour une
25 telle valeur d'émission est comprise entre 18 et 70 mm pour une résolution respectivement de 100 à 300 μm .

Réalisation des mesures :

Le site de mesure est repéré par le marquage cutané et par la hauteur à
30 laquelle est positionnée la sonde. Trois images sont acquises successivement au niveau du repère. Sur chaque cliché (image), trois mesures d'épaisseur sont effectuées. L'ensemble de ces 9 mesures permet d'obtenir une précision de $\pm 1\text{mm}$.

L'étude a été réalisée par comparaison de l'effet de deux produits (par
35 exemple placebo/actif) appliqués respectivement sur les deux jambes d'un même sujet.

Deux études ont été réalisées. Une avec la formule dite 33 donnée ci-après (contenant le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl) contre un placebo, l'autre avec la formule dite 375 donnée ci-après (ne contenant pas le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl) contre un placebo.

- 5 Les résultats des deux études seront comparées après normalisation statistique des résultats des placebos effectuée par rapport au jour J0.

Description des produits :

10	<u>Formule 33 :</u>	
	N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl	0,04 %
	Extrait sec de Visnaga vera	0,10 %
	Extrait sec de Terminalia Sericea	0,10 %
	Extrait sec de Coleus forskholii	0,25 %
15	Ethoxydiglycol	10,00 %
	Excipient gélifié + conservateurs + parfums qsp.	100,00 %

- Remarque : le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl est préalablement dissout dans de l'éthoxydiglycol avant son incorporation dans la composition (formule 33).
- 20

	<u>Formule 375 :</u>	
	Extrait sec de Visnaga vera	0,10 %
	Extrait sec de Terminalia Sericea	0,10 %
25	Extrait sec de Coleus forskholii	0,25 %
	Ethoxydiglycol	10,00 %
	Excipient gélifié + conservateurs + parfums : qsp.	100,00 %

- Placebo:
- 30 gel aqueux de Carbopol 940® (0,13%) + conservateurs

Chaque sujet sera son propre témoin (une jambe sera soumise à un produit, la jambe controlatérale recevant un produit différent).

- Cette étude a été réalisée en mode « double aveugle », seules les personnes assurant la fabrication, le conditionnement et l'identification des
- 35

produits ayant connaissance de leur nature (à l'exclusion donc de toute personne participant de près ou de loin aux tests).

Le choix des jambes traitées par un produit donné est défini de façon aléatoire par un programme informatique approprié.

5 L'activité des produits testés a été évaluée sur une période de deux mois, la cinétique des mesure ayant été la suivante :

A t = 0 (La veille du premier jour d'application des produits) = J0 :

- prise du poids des volontaires,
- 10 • positionnement du repérage cutané, prise des coordonnées de positionnement,
- description de la qualité de la peau au niveau de la région de la mesure,
- 15 • saisie des différents paramètres quantitatifs (mesures échographiques...).

A t = 28jours = J28 :

- prise du poids des volontaires,
- 20 • vérification de la qualité de la peau dans la région de mesure,
- vérification du bon positionnement du repère cutané,
- saisie des mêmes paramètres qu'à t = 0.

A t = 56 jours = J56 :

- 25 • mesures dans les mêmes conditions que précédemment,
- arrêt de l'application des produits.

Résultats :

Les résultats des mesures sont repris dans le tableau I ci-après.

30

35

Tableau I :

Mesure de l'épaisseur du tissu adipeux exprimé en millimètres

		ETUDE N° 1		ETUDE N°2	
		Formule 33 AVEC N-acétyl-L- Tyr-L-Arg-O- hexadécyl	PLACEBO de la formule 33	Formule 375 SANS N-acétyl-L- Tyr-L-Arg-O- hexadécyl	PLACEBO de la formule 375
n		10	10	7	7
J0	X	29,9	28,1	27,7	27,2
	Sx	11,5	10,4	7,1	6,9
	CV%	38,5%	37,0%	25,5%	25,4%
J28	X	28,4	28,3	26,8	26,5
	Sx	11,1	10,4	6,9	6,5
	CV%	39,1%	36,7%	27,8%	24,5%
J56	X	28,1	29,3	26,3	26,8
	Sx	11,2	10,9	7,0	7,0
	CV%	39,9%	37,2%	26,5%	26,1%

5

Où :

- « n » est le nombre de volontaires,
- « X » et « Sx » expriment la moyenne et l'écart-type respectivement; leur unité est ici %,
- « CV » exprime le coefficient de variation ($CV\% = (X/Sx) \cdot 100$).

10

On constate que les 2 études (celle sur la formule 33 et celle sur la formule 375) ont des comportements différents en particulier à J0.

Pour mieux voir le comportement il faut exprimer la variation par rapport à J0.

15

Une normalisation a donc été effectuée par rapport à J0.

A la suite de la normalisation, il est possible de calculer l'évolution dans le temps pour les deux formules et de comparer ces évolutions. Les résultats de ces calculs sont reportés dans le tableau II, ci-après.

20

Tableau II :

Diminution de l'épaisseur du tissu adipeux exprimé en pourcentage.

	FORMULE 33 avec N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl	FORMULE 375 sans N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl
n	10	7
J0	0 A	0 A
J28	-6,2% B	-1,0% A
J56	-10,8% B	-3,7% A
probabilité (α)	<0,05	>0,05
Sr	6,0	3,0

5

Où : Sr est la variance résiduelle.

Les analyses ont été faites par des analyses de la variance à deux facteurs, le facteur traitement (formule (33 ou 375) par rapport à son placebo) et le facteur volontaire.

10 Les résultats dans le tableau II sont les moyennes des valeurs obtenues pour l'ensemble des volontaires.

Les groupes A et B sont déterminés par la méthode de Newmann-Keuls au risque $\alpha=5\%$.

15 Grâce aux groupes de significativité (mentionnés par des lettres A et B), on voit ici qu'il y a une différence entre J0 et les 2 autres jours pour la formule 33; mais la différence entre J28 et J56 n'est pas significative.

Par contre la formule 375 ne montre pas de différence entre les 3 jours.

Conclusion de l'exemple 2 :

20 Au bout de 58 jours, l'épaisseur du tissu adipeux a diminué significativement (au risque $\alpha=5\%$) de 10,8 % pour la formule avec le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl par rapport à la variation du placebo. Pour la formule 375 sans le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl, la diminution n'est que de 3,7% et est statistiquement différente de la formule 33, cette

25 diminution n'est pas significative au risque $\alpha=5\%$.

La formule 33 avec le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl montre donc une meilleure activité pour réduire l'épaisseur du tissu adipeux que la formule 375 qui est identique à la formule 33 mais ne contient pas de peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl.

Les résultats exprimés dans le tableau II ci-dessus démontrent clairement que le peptide selon l'invention, testé dans cet exemple, réduit l'épaisseur du tissu adipeux de façon significative, pour des concentrations de 0,04% environ en poids par rapport au poids total de la composition appliquée.

5 Les inventeurs ont donc mis en évidence une activité fortement amincissante des peptides selon l'invention.

Conclusion des exemples 1 et 2 :

10 Les inventeurs ont ainsi démontré in vitro et in vivo que les peptides selon l'invention peuvent être avantageusement utilisés dans des compositions cosmétiques destinées à réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, et destinées à obtenir une action amincissante ou pour la fabrication de compositions pharmaceutiques destinées au traitement de la cellulite et/ou des surcharges graisseuses sous-cutanées.

15 L'invention fait maintenant l'objet de divers exemples de formulations de diverses compositions cosmétiques, ou pharmaceutiques, à usage topique.

20 Dans ces exemples de formulation, le peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyl est préalablement dissout dans de l'éthoxydiglycol avant son incorporation dans les compositions.

Exemple 3 de l'invention : Crème amincissante :

Polydécène	7,50 %
Octanoate de Cetostéaryl	5,00 %
Octanoate d'octyl	5,00 %
Methylglucose Sesquistearate	3,00 %
Cire d'Abeille	3,00 %
Alcool Béhénique	3,00 %
Glycerine	3,00 %
Gomme Xanthane	0,20 %
Parfum	0,20 %
Carbomer	0,15 %
N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyle	0,05%
Conservateur	qs.
Neutralisant	qs.
Eau	qsp 100,00 %

Exemple 4 de l'invention : Lotion Raffermissante - Amincissante - anti-cellulite :

Alcool Dénaturé (Ethanol)	30,00 %
PPG-3 Myristyl ether	5,00 %
Glycerine	2,00 %
Polysorbate 20	1,00 %
Carbomer	0,20 %
Parfum	0,20 %
N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyle	0,10 %
Neutralisant	qs.
Eau	qsp. 100,00 %

Exemple 5 de l'invention : Spray Raffermissant - Amincissant :

5

Alcool Dénaturé (Ethanol)	10,00 %
PEG-7 Glyceryl Cocoate	5,00 %
Glycerine	2,00 %
Polysorbate 20	2,00 %
Parfum	0,20 %
N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyle	0,12 %
Conservateur	qs.
Acide citrique/Citrate de sodium	qsp. pH 6,50
Eau	qsp. 100,00 %

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'au moins un peptide synthétique correspondant à la formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH₂ ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, comme agent cosmétique ou pour la fabrication d'une composition cosmétique, pour obtenir une action amincissante et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées.
2. Utilisation d'un peptide selon la revendication 1 pour la fabrication d'une composition pharmaceutique à usage topique destinée au traitement de la cellulite et/ou au traitement des surcharges graisseuses sous-cutanées.
3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que le peptide précité est tel que les groupes respectivement R1 constitué du groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne aliphatique comprenant de 1 à 18 atomes de carbone et R2 constitué du groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne aliphatique linéaire saturée ou non comprenant de 1 à 18 atomes de carbone, représentent chacun une chaîne aliphatique linéaire saturée ou insaturée comprenant de 1 à 18 atomes de carbone.
4. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le peptide précité est le N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyle.
5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4 caractérisée en ce que le peptide précité est préalablement solubilisé dans un ou plusieurs solvants cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptables comme l'eau, l'éthanol, le propanol ou l'isopropanol, le propylène glycol, l'éthoxydiglycol, les éthers méthyliques ou éthyliques des diglycols, les polyols cycliques, les diglycols éthoxylés ou propoxylés ou tout mélange de ces solvants.
6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5 caractérisée en ce que le peptide précité est préalablement solubilisé dans un vecteur cosmétique ou pharmaceutique comme les liposomes ou adsorbé sur des polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autre supports minéraux, et plus généralement

solubilisé dans, ou fixé sur, tout vecteur cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable.

7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6 caractérisée en ce que le peptide précité est présent dans une composition à une concentration comprise
5 entre 0,001% et 10% environ, et préférentiellement à une concentration comprise entre 0,01% et 1% environ en poids par rapport au poids total de la composition finale.

8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7 caractérisée en ce que le peptide précité est associé à un excipient cosmétiquement ou
10 pharmaceutiquement acceptable, contenant de préférence un agent améliorant la biodisponibilité dudit peptide tel qu'un agent de pénétration, tel que l'éthanol.

9. Composition cosmétique destinée à obtenir une action amincissante, et/ou à réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité efficace pour obtenir une action
15 amincissante, et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, d'au moins un peptide synthétique correspondant à la formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou
20 non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy, et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyl comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH₂ ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, dans un
25 excipient cosmétiquement acceptable, ledit peptide étant de préférence défini selon l'une quelconque des revendications 3 à 7.

10. Procédé de traitement cosmétique pour obtenir une action amincissante, et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, caractérisé en ce qu'on applique topiquement sur les zones de la
30 peau concernées une quantité efficace pour obtenir ladite action amincissante, et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, d'au moins un peptide synthétique correspondant à la formule générale : R1-L-Tyr-L-Arg-R2 dans lequel R1 représente un atome d'hydrogène ou un groupe R3-C=O avec R3 représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de
35 carbone, linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée, hydroxylée ou non, ou avec R3 représentant un groupe aryle, aryl-alkyle ou alkyloxy ou aryloxy ou arylalkyloxy,

et dans lequel R2 représente un radical OH ou un groupe O-R4 dans lequel R4 représente une chaîne alkyle comprenant de 1 à 20 atomes de carbone, ou bien R2 représente un groupe NH2 ou NHX ou NXX avec X représentant une chaîne alkyle comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, dans un excipient cosmétiquement acceptable, ledit peptide étant de préférence défini selon l'une quelconque des revendications 3 à 7.

11. Procédé de traitement cosmétique pour obtenir une action amincissante, et/ou pour réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, caractérisé en ce qu'on applique topiquement sur les zones de la peau concernées une quantité efficace pour obtenir ladite action amincissante, et/ou réduire, éliminer ou prévenir les surcharges graisseuses sous-cutanées, du peptide N-acétyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadécyle.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 572548
FR 9815340

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X, D	WO 98 07744 A (SEDERMA) 26 février 1998 (1998-02-26) * le document en entier *	9
A	FR 2 668 365 A (SEDERMA) 30 avril 1992 (1992-04-30) * le document en entier *	1-11
X	WO 94 09750 A (UNILEVER) 11 mai 1994 (1994-05-11) * revendications 1,12,17 *	9
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
29 septembre 1999		Fischer, J.P.
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

DERWENT-ACC-NO: 2000-402449

DERWENT-WEEK: 200035

COPYRIGHT 2009 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Topical slimming compositions
containing a L-tyrosine-L-
arginine synthetic peptide

INVENTOR: ANDRE P; SCHNEBERT S

PATENT-ASSIGNEE: PARFUMS DIOR SA CHRISTIAN
[DIOR]

PRIORITY-DATA: 1998FR-015340 (December 4, 1998)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE
FR 2786693 A1	June 9, 2000	FR

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL- DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
FR 2786693A1	N/A	1998FR- 015340	December 4, 1998

INT-CL-CURRENT:

TYPE	IPC DATE
CIPS	A61K8/14 20060101

CIPS A61K8/64 20060101

CIPS A61Q19/06 20060101

ABSTRACTED-PUB-NO: FR 2786693 A1

BASIC-ABSTRACT:

NOVELTY - Cosmetic compositions containing a synthetic peptide and their use in slimming and to reduce excessive subcutaneous fatty deposits.

DESCRIPTION - The new compositions contain a synthetic peptide having the general formula R-L-Tyr-L-Arg-R2 where

R1 = H or R3-CO-;

R2 = OH or -OR4;

R3 = straight or branched, saturated or unsaturated 1-20C alkyl which may be hydroxylated, or an aryl, aryl-alkyl, alkyloxy, aryloxy, or aryl-alkyloxy group;

R4 = 1-20C alkyl, NH2, NHX or NXX;

X = 1-4C alkyl

The peptide may be solubilized in a cosmetic or pharmaceutical carrier, especially a liposome, or be adsorbed onto a powdered carrier which may be a polymer, talc, or bentonite. The compositions may further contain water or a suitable organic solvent. The amount of the

peptide present is preferably 0.001 - 10%, especially 0.01 - 1%.

USE - Topical treatment of cellulite and excessive subcutaneous fatty deposits. opt

EQUIVALENT-ABSTRACTS:

ORGANIC CHEMISTRY

The peptides are known, their preparation being described in WO 98/07744

SPECIFIC COMPOUNDS

The use of N-acetyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadecyl is specifically claimed.

In a double blind trial, female volunteers applied a preparation containing 0.10% N-acetyl-L-Tyr-L-Arg-O-hexadecyl twice a day to one leg and a similar composition without this peptide to the other leg. After 56 days the thickness of adipose tissue was measured and the treated legs showed 10.8% less compared with the legs treated with the placebo.

TITLE-TERMS: TOPICAL SLIM COMPOSITION CONTAIN
TYROSINE ARGININE SYNTHETIC
PEPTIDE

DERWENT-CLASS: A96 B05 D21

CPI-CODES: A12-V01; B10-B01B; B14-F06; D08-A;

CHEMICAL-CODES: Chemical Indexing M2 *01*
 Fragmentation Code G013 G100 H4
 H401 H441 H8 J0 J013 J2 J271 J3
 J372 K0 L2 L250 M210 M211 M225
 M231 M262 M272 M281 M312 M314
 M321 M332 M343 M349 M371 M381
 M391 M414 M431 M510 M520 M531
 M540 M782 P943 Q254 Specific
 Compounds RA1Z0D Registry
 Numbers 295276

Chemical Indexing M2 *02*
 Fragmentation Code G010 G019
 G020 G021 G040 G100 G111 G221
 H100 H181 J0 J012 J013 J171
 J271 J3 J331 J371 J372 K0 K820
 L2 L250 L463 M210 M211 M212
 M213 M214 M215 M216 M220 M221
 M222 M223 M224 M225 M226 M231
 M232 M233 M262 M272 M273 M280
 M281 M282 M311 M312 M313 M314
 M315 M316 M321 M322 M331 M332
 M333 M340 M342 M343 M349 M371
 M372 M373 M381 M391 M414 M431
 M510 M520 M531 M532 M540 M782
 P943 Q254 Markush Compounds
 001904301

ENHANCED-POLYMER-INDEXING: Polymer Index [1.1]
 018 ; P0000; S9999
 S1514 S1456;

Polymer Index [1.2]
 018 ; ND01; Q9999
 Q8037 Q7987;

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: 2000-121992